



Experimental study action autostrains *Aerococcus viridans* on the model *Pseudomonas* infection

D. O. Stepanyi, G. M. Kremenchutskyi, I. P. Koshova

Dnipro Medical Academy of Ministry of Health of Ukraine, Dnipro, Ukraine

Article info

Received 29.03.2017

Received in revised form
20.05.2017

Accepted 23.05.2017

Dnipro Medical Academy
of Health Ministry of Ukraine,
Sq. Cathedral, 4, Dnipro,
49027, Ukraine.
E-mail:
koshevaya.ip@gmail.com

Stepanyi, D. O., Kremenchutskyi, G. M., & Koshova, I. P. (2017). Experimental study action autostrains *Aerococcus viridans* on the model *Pseudomonas* infection. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*, 8(3), 313–316. doi:10.15421/021749

The paper presents the results of a study of the action of *Aerococcus* autostrains on the model of a chronic blue pus infection. For the study of the action of *Aerococcus* autotrophic strains on *Pseudomonas aeruginosa*, three of the most biochemically and antagonistically active isolates were selected: 1) 5m2015 (isolated from mice); 2) 3k2015 (isolated from rats); 3) 3ch2015 (isolated from humans). Experiments were conducted on 84 white outbred mice weighing 16–17 g, 60 were used as the experimental, and 24 as the control group. In the experimental group of animals, infected wounds were treated by *Aerococcus* autotrophic strains once daily ($0.2 \text{ billion ml}^{-1}$) till recovery. The drug was administered under the eschar with a syringe. In the control animals the wound was treated by isotonic sodium chloride solution (concentration 0.9%) with the same route of administration and for the same period of time. It was found that from the very first days of application of *Aerococcus* autotrophic strains, perifocal inflammation was less severe in most animals in the research group compared with the control group. Starting from the fourth day of usage of *Aerococcus* autotrophic strains the number of pseudomonades, contained in secretions from wounds in the experimental group of mice was significantly lower than in the control animals. It was revealed that in case of application of *Aerococcus* strain (5m2015) isolated from mice, the animals had better indicators of recovery, dynamics of local clinical signs of inflammation and the number of pseudomonades contained in the wound in comparison with other *Aerococcus* autostrains isolated from rats and humans. The wounds purified from pus and covered with dry eschar faster. For example, wounds completely healed with dry eschar rejection by the 11th day of observation in 44 of 58 surviving mice (75.9%). In the control group a similar pattern was observed in only 3 of 17 mice (17.6%) by the that period. The number of *Pseudomonas aeruginosa* (equivalent to 1 ml of secretions wounds), expressed in logarithms, was 5.00 ± 0.16 on average on the 4th day in the treated mice, while the control group had the same amount of pseudomonades detected in the wounds ($\lg 5.22 \pm 0.38$; $\lg 5.12 \pm 0.30$) only on the 13–14th days of observation. We found different activity of strains, depending on the origin of microorganism and type host. *Aerococcus viridians* autotrophs showed higher rates in the study of their activity in terms of the blue pus infection model in the treatment of the host and lower activity in treatment of other species. The obtained data may warrant further study of application of *Aerococcus* autostrains for treatment and prevention of wound infection caused by pseudomonades.

Keywords: wound infections; *Pseudomonas*; autotrophs; *Aerococcus*

Експериментальне вивчення дії аутоштамів *Aerococcus viridans* на моделі синьогнійної інфекції

Д. О. Степанський, І. П. Кошова, Г. М. Кременчуцький

Дніпровська медична академія МОЗ України, Дніпро, Україна

Наведено результати вивчення дії аутоштамів аерококів на моделі хронічної синьогнійної інфекції, викликаній псевдомонадами. Для експерименту з вивчення дії аутосимбіотичних штамів аерококів на *Pseudomonas aeruginosa* вибрано три найактивніші у біохімічному та антагоністичному відношенні ізоляти: 1) 5m2015 (виділений від мишей), 2) 3k2015 (виділений від щурів), 3) 3ch2015 (виділений від людини). У більшості тварин дослідних груп уже з перших днів застосування аутосимбіотичних штамів аерококів перифокальне запалення було менш вираженим порівняно з контрольною групою мишей, а кількість псевдомонад, що містилися у виділеннях ран дослідних груп мишей, починаючи з четвертої доби застосування аутосимбіотичних штамів аерококів, перебувала на достовірно нижчому рівні, ніж у контрольних тварин. Під час застосування штаму аерококів 5m2015, виділеного від мишей, у тварин спостерігали кращі показники одужання, динаміку розвитку місцевих клінічних симптомів запалення та більшу кількість псевдомонад, які містилися у рані, порівняно з іншими аутоштамами аерококів, виділених від щурів і людини. Рани швидше очищалися від гною та покривалися сухим струпом. Наприклад, до 11-ї доби спостереження рани повністю гоїлися з відторгненням сухого струпа у 44 з 58 мишей, що вижили (75,9%). У контрольній групі тварин до зазначеного терміну аналогічна картина спостерігалася лише у 3 із 17 мишей (17,6%). У лікованих мишей

вже на четверту добу кількість синьогнійної палички (у перерахунку на 1 мл виділень ран, виражена в логарифмах) склала в середньому $5,0 \pm 0,16$, у контрольній групі така ж кількість псевдомонад ($\lg 5,22 \pm 0,38$; $\lg 5,12 \pm 0,30$) виявлялася в ранах лише на 13–14-ту добу спостереження. Охарактеризовано закономірності різної антагоністичної активності аутоштамів *Aerococcus viridans*, яка залежить від походження мікроорганізму та виду господаря. Отримані дані можуть служити підставою для подальшого вивчення застосування аутоштамів аерококів для лікування ран, ускладнених синьогнійною інфекцією.

Ключові слова: ранові інфекції; псевдомонади; аутопробіотики; аерококи

Вступ

Гнійно-запальні захворювання та післяопераційні гнійні ускладнення – актуальна проблема сучасної клінічної хірургії. Незважаючи на постійне удосконалення методик оперативних втручань, частота інфекційних ускладнень у хірургії становить у середньому 3–15%, а за даними окремих авторів сягає 30%. Нині 35–40% хворих хірургічного профілю становлять пацієнти з гнійно-запальними захворюваннями (Leaper et al., 2010; Marwick et al., 2011; Vil'canjuk and Hutorjans'kij, 2012; Gupta et al., 2015; Nešpor et al., 2015). Особливість лікування ранової інфекції на сучасному етапі – полірезистентність збудників до антибіотиків (Riou et al., 2010; Narendra et al., 2017; Wei et al., 2017), що мають різні молекулярні механізми дії. Це змушує лікарів застосовувати нові схеми лікування, наприклад, комбінації антибіотиків нових поколінь (Drinka et al., 2012; Leaper et al., 2010; Campos Furtado et al., 2007; McCay et al., 2010).

У питаннях вивчення госпітальної інфекції проблему патогенезу та лікування ран, ускладнених синьогнійною інфекцією, відносять до найважливіших (Hossam Mohamed, 2016; Zhao Yan et al., 2016). Летальність, пов'язана з гнійно-септичними захворюваннями (ГСЗ), зумовленими *Pseudomonas aeruginosa*, досить висока – 34–48% (Oliver et al., 2015; Suárez et al., 2010).

Боротьба з рановою інфекцією стає все складнішою проблемою, потребує пошуку та залучення препаратів, ефективних до нозокоміальної інфекції. Сформована ситуація вимагає пошуку нових засобів та підходів до лікування. Один з обговорюваних в останні роки підходів до профілактики та лікування кишкових інфекцій – застосування пробіотиків (Lytvyn et al., 2016; Oliveira and González-Molero, 2016).

Спектр показань для застосування пробіотиків широкий: їх використовують для стимуляції клітинних і гуморальних чинників імунітету, активізації обмінних процесів і нормалізації травлення, лікування та профілактики дисбактеріозу, шлунково-кишкових захворювань інфекційної та аліментарної етіології, нормалізації мікрофлори травного тракту після лікування антибіотиками та іншими антибактеріальними засобами. Спектр застосування пробіотиків у клінічній практиці може бути суттєво розширено за рахунок антимікробної терапії зовнішніх гнійно-запальних процесів. Багатьма дослідниками встановлено важливу роль нормальної мікрофлори організму людини у підтриманні його фізіологічного стану, забезпеченні гомеостазу та життєвості (Shenderov, 2011).

Найбільшої уваги, на наш погляд, заслуговують аутопробіотики (Il'in et al., 2013; Shumikhina et al., 2015; Simanenko et al., 2014). Особливу цікавість викликає *Aerococcus viridans*, оскільки він – представник нормальної мікрофлори людини. Застосування цього мікроорганізму має цілу низку переваг: відсутність побічного впливу на організм, висока адгезивна здатність, можливості використання у сенсibilізованих до антибіотиків та хіміотерапевтичних препаратів пацієнтів, імуностимулювальна дія на організм людини. Також *A. viridans* має виражені антагоністичні властивості відносно різних умовно-патогенних і патогенних мікроорганізмів (Kremenchutskiy, 2001).

Саме тому мета дослідження – оцінити дію аутоштамів аерококів на синьогнійну паличку.

Матеріал і методи досліджень

Часто випробування препаратів за синьогнійної інфекції проводили на моделях, що відтворюють види гострих інтоксикацій у лабораторних тварин, а не інфекційний процес, із яким найчастіше стикаються клініцисти. Спроби створити хронічну

модель синьогнійної інфекції з переважним проявом місцевих симптомів закінчувалися отриманням запальної реакції, що розвивалася через 12 годин після інюкуляції мікроорганізмів, яка вихула на 7–9-ту добу від моменту введення інфікувальної дози. Отже, для вивчення дії аутоштамів аерококів обрано модель, яка приблизно відтворювала перебіг хронічної синьогнійної інфекції, тобто мала вогнище запалення та пролонговану дію.

Для створення експериментальної моделі опіків, інфікованих *P. aeruginosa*, тваринам проводили загальну анестезію тіопенталом натрію, після цього на депільовану бокову поверхню тварини наносили травму через металічне кільце (діаметр 2 см) ватним тампоном, змоченим у спирті та підпаленим. Рану підсушували стерильним тампоном і у центр опіку вносили інфікувальну дозу *P. aeruginosa* (1 мл 10^9 клітин), чекаючи на повне всмоктування. Через 20–24 години вдруге вводили *P. aeruginosa* під утворену до цього часу кірку (1–2) * 10^9 мікробних клітин. Вторинне уведення культури синьогнійної палички в рану сприяло тяжкості розвитку патологічного процесу з тривалішим періодом прояву клінічних симптомів запалення.

Для зараження використовували два вірулентні штами: № ATCC 27853 – музейний штам і № 23, виділений із рани хворого з важкою опіковою травмою (табл. 1).

Таблиця 1

Характеристика штамів *Pseudomonas aeruginosa*

Властивості штамів	№ ATCC 27853	№ 23
Джерело отримання	музейний штам	клінічний штам
Утворення піоціаніну	+	+
Забарвлення за Грамом	–	–
Гідроліз желатину	+	+
Утворення цитохромоксидази	+	+
Гемоліз еритроцитів	+	+
Ріст при 42 °C	+	+
Ферментація вуглеводів:		
глюкоза	К	К
галактоза	К	К
маноза	К	К
сахароза	–	–
лактоза	–	–
мальтоза	–	–
маніт	–	–
ксилоза	К	К
фруктоза	К	К
Відновлення нітратів у нітрити	+	+
Згортання молока	+	+
Гідроліз казеїну	+	+
Рухливість	+	+
Серогрупа	2	6
LD ₅₀ (внутрішньочеревинне уведення)	$5,3 \cdot 10^8$	$4,03 \cdot 10^6$

Примітки: «+» – наявність реакції; «–» – відсутність реакції; К – утворення кислоти.

Із метою вивчення динаміки обсіменіння інфікованих ран псевдомонадами проводили бактеріологічне дослідження вмісту ран у різні терміни після вторинного інфікування. Відбирали проби таким чином: до поверхні рани прикладали стандартний диск із фільтрувального паперу, потім поміщали його в 1 мл ізотонічного розчину хлориду натрію (концентрація 0,9%), ретельно струсували 10–15 хв і змив мірно засівали на селективне середовище – поживний агар із цетилперидиніум-хлоридом (ЦПХ-агар). Після 48-годинної інкубації за 37 °C враховували кількість колоній *P. aeruginosa*, що вирости на живильному середовищі. Для експерименту з вивчення дії аутосимбіотичних штамів аерококів на *P. aeruginosa* відібрано три найактивніші у біохімічному та антагоністичному відношенні ізоляти аерококів: 1) 5m2015 (виділений від мишей),

2) 3к2015 (виділений від щурів), 3) 3ч2015 (виділений від людини).

Експерименти з вивчення дії аутосимбіотних штамів аерококів поставлені на 84 безпородних білих мишах масою 16–17 г, із яких 60 тварин склали дослідну групу, а 24 – контрольну. У дослідних тварин інфіковані рани щодня одноразово обробляли аутосимбіотними штамми аерококів (0,2 млрд в 1 мл) до одужання. Препарат вводили під струпу за допомогою шприца. У контрольних тварин так само й у ті ж терміни рану обробляли ізотонічним розчином хлориду натрію (концентрація 0,9%).

За тваринами спостерігали протягом трьох тижнів. Показниками дії аутосимбіотних штамів аерококів служили:

- 1) кількість загинувлих тварин;
- 2) інтенсивність прояву місцевих клінічних симптомів запалення, визначена під час огляду ран;
- 3) кількість псевдомонад, які містяться в рані.

Для статистичного аналізу використовували пакет прикладних програм Statistica 6.1 (StatSoft Inc., USA).

Результати та їх обговорення

Картина розвитку та перебігу хронічної синьогнійної інфекції представлена у трьох серіях дослідів. Наведені дані свідчать про розвиток синьогнійної інфекції з різним ступенем генералізації патологічного процесу з чітким проявом місцевих клінічних симптомів запалення. Повторне уведення культури синьогнійної па-

лички в 17,1% випадків призвело до швидкого розвитку сепсису та загибелі мишей. Водночас, у 82,9% тварин розвивався місцевий запальний процес, переважно різко або помірно виражений (65,9%; $P < 0,001$), та доступний спостереженню протягом двох тижнів (табл. 2). І хоча рана до зазначеного терміну загоювалась, дуже часто в цій ділянці виявляли осумковані гнійні інфільтрати. Колонії *P. aeruginosa* виявлено у виділеннях рани аж до повного її загоєння, в максимальній кількості – на 5–6-ту добу спостереження. Отже, ця модель відтворює ранову форму синьогнійної інфекції, що дозволило використати її для оцінювання активності аутосимбіотних штамів під час *A. viridans*-експериментального лікування синьогнійної інфекції, застосованих місцево.

Під час вивчення дії аутосимбіотних штамів аерококів на моделі синьогнійної інфекції у тварин упродовж трьох тижнів встановлено, що в контрольній групі нелікованих мишей частіше наставала загибель тварин від розвитку синьогнійного сепсису, і при цьому в більш ранні терміни (2–3-тя доба), ніж у дослідних – 29,2% випадків проти 0–5% ($P < 0,05$) (табл. 3).

Із даних таблиць 3 та 4 видно, що у більшості тварин дослідних груп уже з перших діб застосування аутосимбіотних штамів аерококів перифокальне запалення було менш вираженим порівняно з контрольною групою мишей. Рани швидше очищалися від гною та покривалися сухим струпом. Наприклад, до 11-ї доби спостереження рани повністю гоїлися з відторгненням сухого струпа у 44 з 58 мишей, що вижили (75,9%).

Таблиця 2

Розвиток патологічного процесу в білих мишей за двократного інфікування рани псевдомонадами (абс.)

Серія експерименту	Загальна кількість тварин	Із них загинуло			Розвиток місцевих симптомів запалення у мишей, що вижили					Строки загоєння ран, доба
					інтенсивність запалення:					
		всього	3-тя доба	11-та доба	всього	++++	+++	++	+	
1	15	3	2	1	12	4	5	2	1	12–16
2	14	2	1	1	12	5	4	3	0	12–16
3	12	2	2	0	10	4	5	1	0	12–16
Усього (абс./%)	41/100	7/17,1	5/12,2	2/4,9	34/82,9	13/31,7	14/34,2	6/14,6	1/2,4	12–16

Примітки: інтенсивність місцевих клінічних симптомів: ++++ – гіперемія та набряк тканини, що оточує рану, різко виражені; рясне відокремлюване; +++ – гіперемія й набряк виражені помірно; менш рясне, серозне, геморагічне відокремлюване; ++ – гіперемія та набряк виражені слабо; поверхня рани покрита струпом; + – незначна гіперемія навколо рани, покрита сухим струпом.

Таблиця 3

Інтенсивність розвитку місцевих клінічних проявів запалення за синьогнійної інфекції у досліджуваних і контрольній групах тварин (абс./%) за застосування аутосимбіотних штамів аерококів

Групи тварин	Кількість тварин	Загинуло	Розвиток гнійно-некротичного процесу з наступним видужанням							Кількість тварин зі строками загоєння ран на добу							
			у тому числі з інтенсивністю							7	8	9	10	11	12	13	14
			усього	++++	+++	++	+										
5м2015	20/100	–*	20/100	10/50	6/30	2/10	2/10	9/45	4/20	2/10	1/5	–	1/5	2/10	1/5	–	–
3к2015	20/100	1/5*	19/95	8/40	7/35	1/5	3/15	7/35	4/20	2/10	1/5	1/5	2/10	1/5	1/5	–	–
3ч2015	20/100	1/5*	19/95	9/45	5/25	2/10	3/15	4/20	4/20	2/10	1/5	1/5	1/5	1/5	1/5	1/5	–
Контрольна	24/100	7/29,2	17/70,8	9/37,5	4/16,7	2/8,3	2/8,3	–	–	1/4,2	2/8,3	3/12,5	1/4,2	2/8,3	2/8,3	2/8,3	4/16,7
Усього	84/100	9/10,7	75/89,3	36/42,9	22/26,2	7/8,3	10/11,9	20/23,8	12/14,3	9/10,7	6/7,2	5/6,0	5/6,0	6/7,2	5/6,0	3/3,4	4/4,8

Примітки: див. табл. 2; * – $P < 0,05$ порівняно з контрольною групою (за двостороннім точним критерієм Фішера).

Таблиця 4

Lg числа синьогнійних паличок в перерахунку на 1 мл виділень рани ($M \pm m$) та інтенсивність прояву місцевих клінічних симптомів запалення залежно від часу спостереження та групи тварин під час застосування аутосимбіотних штамів аерококів

Групи тварин	Кількість тварин	Кількість діб після початку дослідів															
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
5м2015	20	5,22	5,31	5,05	4,90*	4,44*	4,20*	4,03*	3,95*	3,82*	3,40*	3,21*	3,12*	2,90*	2,69*	2,43*	2,24*
		$\pm 0,21$	$\pm 0,25$	$\pm 0,22$	$\pm 0,28$	$\pm 0,19$	$\pm 0,26$	$\pm 0,17$	$\pm 0,21$	$\pm 0,14$	$\pm 0,13$	$\pm 0,17$	$\pm 0,11$	$\pm 0,14$	$\pm 0,12$	$\pm 0,10$	$\pm 0,11$
		++++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	+	+	±	–	–
3к2015	20	5,52	5,43	5,35	5,00*	4,44*	4,34*	4,12*	4,05*	3,92*	3,50*	3,32*	3,22*	3,06*	2,70*	2,53*	2,47*
		$\pm 0,29$	$\pm 0,22$	$\pm 0,27$	$\pm 0,24$	$\pm 0,22$	$\pm 0,23$	$\pm 0,25$	$\pm 0,20$	$\pm 0,16$	$\pm 0,19$	$\pm 0,15$	$\pm 0,18$	$\pm 0,21$	$\pm 0,15$	$\pm 0,14$	$\pm 0,15$
		++++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	+	+	±	±	–	–
3ч2015	20	5,32	5,47	5,45	5,10*	4,74*	4,34*	4,25*	4,08*	3,96*	3,57*	3,43*	3,22*	3,10*	2,88*	2,62*	2,54*
		$\pm 0,34$	$\pm 0,31$	$\pm 0,32$	$\pm 0,33$	$\pm 0,29$	$\pm 0,27$	$\pm 0,30$	$\pm 0,24$	$\pm 0,22$	$\pm 0,24$	$\pm 0,21$	$\pm 0,23$	$\pm 0,20$	$\pm 0,18$	$\pm 0,21$	$\pm 0,17$
		++++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	+	+	±	±	–	–
Контрольна	24	5,62	5,55	5,48	6,74	6,54	6,77	6,54	6,30	6,02	5,97	5,63	5,89*	5,22	5,12	4,63	4,21
		$\pm 0,36$	$\pm 0,34$	$\pm 0,33$	$\pm 0,31$	$\pm 0,39$	$\pm 0,43$	$\pm 0,37$	$\pm 0,42$	$\pm 0,35$	$\pm 0,32$	$\pm 0,33$	$\pm 0,36$	$\pm 0,38$	$\pm 0,30$	$\pm 0,31$	$\pm 0,28$
		++++	++++	++++	++++	++++	++++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	++	+	+

Примітки: див. табл. 3.

У контрольній групі тварин до зазначеного терміну аналогічна картина спостерігалася лише у 3 з 17 мишей (17,6%; $P < 0,001$). Наведені в таблиці 4 результати свідчать, що незалежно від групи тварин у міру загосення рани знижується забрудненість її синьогнійною паличкою. Водночас, кількість псевдомонад, що містяться у виділеннях ран дослідних груп мишей, починаючи вже з перших днів застосування аутосимбіотичних штамів аерококів, було на низькому рівні порівняно з контрольними тваринами. Якщо у лікованих мишей вже на 4-ту добу кількість синьогнійної палички (у перерахунку на 1 мл виділень із ран), виражена в логарифмах, склала в середньому $5,0 \pm 0,16$, то в контрольній групі така сама кількість псевдомонад ($\lg 5,22 \pm 0,38$; $\lg 5,12 \pm 0,30$) виявлялася в ранах лише на 13–14-ту добу спостереження.

У штаму аерококів, виділених від мишей (5м2015), були кращі показники одужання, динаміка розвитку місцевих клінічних симптомів запалення та кількість псевдомонад, які містилися у рані, порівняно з іншими аутоштамами аерококів, виділеними від шурів та людини. Це може свідчити про різну активність штамів і залежить від походження мікроорганізму та виду господаря. Аутосимбіотичні штами *A. viridans* мають вищі показники під час вивчення їх активності в умовах моделі синьогнійної інфекції у випадку лікування господаря та меншу активність в умовах лікування інших видів.

Висновки

Відтворено модель ранової форми синьогнійної інфекції, що дозволило використати її для оцінки активності аутосимбіотичних штамів аерококів: 5м2015 (виділений від мишей), 3к2015 (виділений від шурів), 3ч2015 (виділений від людини), застосованих місцево для експериментального лікування синьогнійної інфекції.

У контрольній групі нелікованих мишей достовірно частіше ставалася загибель тварин від розвитку синьогнійного сепсису та у більш ранні терміни (2–3-тя доба), ніж у дослідних.

У більшості тварин дослідних груп уже з перших днів застосування аутосимбіотичних штамів аерококів перифокальне запалення було менш вираженим порівняно з контрольною групою мишей.

У разі застосування штаму аерококів (5м2015), виділеного від мишей, у тварин були кращі показники одужання, динаміка розвитку місцевих клінічних симптомів запалення та кількість псевдомонад, які містилися у рані, порівняно з іншими аутоштамами аерококів, які виділені від шурів і людини.

Кількість псевдомонад, що містилися у виділеннях із ран дослідних груп мишей, починаючи з четвертої доби застосування аутосимбіотичних штамів аерококів, достовірно нижча порівняно з контрольними тваринами.

Виявлено різну активність штамів аерококів, яка залежить від походження мікроорганізму та виду господаря. Аутосимбіотичні *A. viridans* мають вищі показники під час вивчення їх активності в умовах моделі синьогнійної інфекції у випадку лікування господаря та меншу активність в умовах лікування інших видів.

Отримані дані можуть слугувати підставою для подальшого вивчення застосування аутоштамів аерококів для лікувально-профілактичних заходів щодо боротьби з рановою інфекцією, викликану псевдомонадами.

References

Campos Furtado, G. H., d'Azevedo, P. A., Santos, A. F., Gales, A. C., Campos Pignatari, A. C., & Servolo Medeiros, E. A. (2007). Intravenous polymyxin B for the treatment of nosocomial pneumonia caused by multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 30(4), 315–319.

Drinka, P., Bonham, P., & Cmich, C. J. (2012). Swab culture of purulent skin infection to detect infection or colonization with antibiotic-resistant bacteria. *Journal of the American Medical Directors Association*, 13(1), 75–79.

Gupta, A. K., Batra, P., Mathur, P., Karoung, A., Thanbuana, B. T., Thomas, S., Balamurugan, M., Gunjiyal, J., & Misra, M. C. (2015). Microbial epidemiology and antimicrobial susceptibility profile of wound infections in outpatients at a level 1 trauma centre. *Journal of Patient Safety and Infection Control*, 3(3), 126–129.

Hossam, M. (2016). One year prevalence of critically ill burn wound bacterial infections in surgical ICU in Egypt: Retrospective study. *Egyptian Journal of Anesthesia*, 32(3), 431–434.

Il'in, V. K., Suvorov, A. N., & Kirjuhina, N. V. (2013). Autoprobiotiki kak sredstvo profilaktiki kiinfekcionno-vospalitel'nyh zabolevanij u cheloveka v iskusstvennoj srede obitaniya. *Vestnik RAMN*, 2, 56–62 (in Russian).

Kremenchutskiy, G. N. (2001). Biological features of A-bacterin. *Medichni Perspektivi*, 6(3), 90–97 (in Russian).

Leaper, D., McBain, A. J., & Kramer, A. (2010). Healthcare associated infection: Novel strategies and antimicrobial implants to prevent surgical site infection. *Annals of the Royal College of Surgeons of England*, 92(6), 453–458.

Lytvyn, L., Quach, K., Banfield, L., Johnston, B. C., & Mertz, D. (2016). Probiotics and synbiotics for the prevention of postoperative infections following abdominal surgery: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Journal of Hospital Infection*, 92(2), 130–139.

Marwick, C., Broomhall, J., & Mc Cowan, C. (2011). Severity assessment of skin and soft tissue infections: Cohort study of management and outcomes for hospitalized patients. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 66(2), 387–397.

Mc Cay, P. H., Ocampo-Sosa, A. A., & Fleming, G. T. (2010). Effect of subinhibitory concentrations of benzalkonium chloride on the competitiveness of *Pseudomonas aeruginosa* grown in continuous culture. *Microbiology*, 156(1), 30–38.

Narendra, P. S., Mayuri, R., Kavita, G., Tanu, S., & Iqbal, R. K. (2017). Changing trends in antimicrobial susceptibility pattern of bacterial isolates in a burn unit. *Burns*, 43(5), 1083–1087.

Nešpor, D., Fabián, J., & Němec, P. (2015). A retrospective analysis of deep sternal wound infections after longitudinal median sternotomy. *Cor et Vasa*, 57(2), e75–e81.

Oliver, A., Mulet, X., Lopez-Causape, C., & Juan, C. (2015). The increasing threat of *Pseudomonas aeruginosa* high-risk clones. *Drug Resist Updates*, 21–22, 41–59.

Olveira, G., & González-Molero, I. (2016). An update on probiotics, prebiotics and synbiotics in clinical nutrition. *Endocrinología y Nutrición (English Edition)*, 63(9), 482–494.

Riou, M., Carbonnelle, S., Avrain, L., Mesaros, N., Pimay, J., Bilocq, F., De Vos, D., Simon, A., Piérard, D., Jacobs, F., Dediste, A., Tulkens, P. M., Van Bambeke, F., & Glupczynski, Y. (2010). *In vivo* development of antimicrobial resistance in *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from the lower respiratory tract of Intensive Care Unit patients with nosocomial pneumonia and receiving antipseudomonal therapy. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 36(6), 513–522.

Shenderov, B. A. (2011). Probiotic (sybiotic) bacteria languages. *Anaerobe*, 17(6), 490–495.

Shumikhina, I., Sundukova, Z., Solovyeva, O., & Simanenkova, V. (2015). Su1381 autoprobiotic: Place in the prevention of postinfectious irritable bowel syndrome. *Gastroenterology*, 148(4), S-492.

Simanenkova, V., Suvorov, A., & Sundukova, Z. (2014). Tu1779 Personalized therapy of gastrointestinal diseases with symbiotic bacteria. *Gastroenterology*, 146(5), S-841.

Suárez, C., Peña, C., Gavalda, L., Tubau, F., Manzur, A., Dominguez, M. A., Pujol, M., Gudiol, F., & Ariza, J. (2010). Influence of carbapenem resistance on mortality and the dynamics of mortality in *Pseudomonas aeruginosa* bloodstream infection. *International Journal of Infectious Diseases*, 14, e73–e78.

Vil'canjuk, O. A., & Hutorjanskij, M. O. (2012). Harakteristika zbudnykiv gnijno-zapal'nyh procesiv m'jakih tkanin ta pisljaoperacijnyh gnijnyh uskladnen' u hvornih zagal'no-hirurgichnogo stacionaru. Pitannja Hirurgichnoji Infekciji ta Antibiotikoterapiji, 53, 84–88 (in Ukrainian).

Wei, F., Fengjun, S., Qian, W., Wei, X., Xuwen, Q., Xiaotian, D., & Peiyuan, X. (2017). Epidemiology and resistance characteristics of *Pseudomonas aeruginosa* isolates from the respiratory department of a hospital in China. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 8, 142–147.

Zhou, Z. Y., Hu, B. J., Gao, X. D., Bao, R., Chen, M., & Li, H. Y. (2016). Sources of sporadic *Pseudomonas aeruginosa* colonizations/infections in surgical ICUs: Association with contaminated sink trap. *Journal of Infection and Chemotherapy*, 22(7), 450–455.